บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

1. บทสรุป

ในการคัดเลือกเชื้ออะไมโลไมซีสที่แยกได้จากลูกแป้งไทยเพื่อหาสายพันธุ์ที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยแป้งดิบได้สูง อาศัยวิธีที่คิดขึ้นเรียกว่า ดิสค์ คัลเจอร์ โดยการเลี้ยงเชื้อบนอาหารสังเคราะห์เหลวที่มีแป้งดิบเป็นแหล่งคาร์บอนชนิดเดียว ทำให้สามารถเปรียบเทียบและคัดเลือกเชื้ออะไมโลไมซีสที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยแป้งดิบได้ดี สำหรับการคัดเลือกเชื้อโดยวิธีดิสค์ คัลเจอร์นี้มีความสดวกและเหมาะสมในการคัดเลือกเชื้อราจำพวกไฟโคไมซีส (Phycomyces) จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับการคัดเลือกเชื้อที่สร้างเอนไซม์อื่นๆชนิดที่ขับออกนอกเซล แล้วปรับปรุงส่วนประกอบของอาหารสังเคราะห์เหลวให้เหมาะสมกับการใช้งาน

ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลสย่อยแป้งดิบ ได้ผสมแป้งดิบซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนกับรำหยาบ เนื่องจากเชื้ออะไมโลไมซีสสามารถสร้างเอนไซม์ย่อยแป้งดิบบนอาหารแข็งที่ผสมแป้งดิบได้สูงกว่าการสร้างเอนไซม์บนอาหารแข็งผสมแป้งที่นึ่งฆ่าเชื้อ ซึ่งการนึ่งฆ่าเชื้อนี้ทำให้แป้งเปลี่ยนสภาพไปเป็นแป้งสุก การผสมรำหยาบและแป้งข้าวเจ้าดิบในอัตราส่วน 3:2 จะเป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมต่อการสร้างเอนไซม์มากที่สุด โดยมีกากถั่วเหลือง 5 % และแอมโมเนียมซิเตรท 0.5 % เป็นแหล่งไนโตรเจน เติม KH_2PO_4 0.15 % และ $MgSO_4$ 0.1 % ปรับอาหารให้มีความชื้น 50 % ปลูกเชื้อขนาด 5×10^5 สปอร์/ก. อาหารเลี้ยงเชื้อลงในอาหารที่มีพีเอช 3.5 และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 °ซ จะเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์

ในการคัดเลือกเชื้ออะไมโลไมซีสและการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อ ได้อาศัยการตรวจสอบแอคติวิตีในการย่อยแป้งดิบเป็นเกณฑ์ ได้ปรับปรุงวิธีการตรวจสอบแอคติวิตีในการย่อยแป้งดิบให้มีความเหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์จากเชื้ออะไมโลไมซีส ทำให้การตรวจสอบมีความจำเพาะกับกลูโคอะไมเลสI เท่านั้น ดังนั้น

การคัดเลือกเชื้อหรือการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อจึงมั่นใจว่าจะเป็นสภาวะที่เหมาะสมกับการผลิตกลูโคอะไมเลสI ซึ่งย่อยแป้งดิบได้อย่างแท้จริง

เมื่อสกัดแยกเอนไซม์ย่อยแป้งดิบให้บริสุทธิ์ด้วยการตกตะกอนเอนไซม์และการแยกโดยอาศัยการแลกเปลี่ยนประจุบนคอลัมน์โครมาโตกราฟีแล้ว พบว่าเอนไซม์ย่อยแป้งดิบของเชื้ออะไมโลไมซีสนี้คือ กลูโคอะไมเลส ระบบกลูโคอะไมเลสจากเชื้ออะไมโลไมซีสประกอบด้วยกลูโคอะไมเลสI ซึ่งย่อยแป้งดิบได้เป็นส่วนใหญ่ และพบกลูโคอะไมเลสII ซึ่งไม่มีคุณสมบัติในการย่อยแป้งดิบ เอนไซม์ที่สกัดได้มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 44,000 ดาลตัน มีความคงตัวที่พีเอช 5.5-7.0 และที่อุณหภูมิไม่สูงกว่า 35 °ซ นอกจากนี้พบว่า มีพีเอชที่เหมาะสมในการย่อยแป้งดิบระหว่าง 4.5-5.5 เช่นเดียวกับการย่อยแป้งสุก เอนไซม์จะย่อยสลายแป้งดิบซึ่งประกอบด้วยอะไมโลเพคตินได้สูง

จากการศึกษาการดูดซับและการย่อยแป้งดิบของกลูโคอะไมเลสของเชื้ออะไมโลไมซีส พบว่าการดูดซับจะมีความจำเพาะกับชนิดของแป้งที่พีเอชต่างๆกัน พีเอชที่เหมาะสมในการทำงานเพื่อการดูดซับและเพื่อการย่อยแป้งดิบจะแตกต่างกัน ซึ่งดูเหมือนว่า อาจมีตำแหน่งการทำงานทั้งสองส่วนนี้บนโมเลกุลในตำแหน่งที่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม การดูดซับและการย่อยแป้งดิบของกลูโคอะไมเลสจากเชื้ออะไมโลไมซีสนี้ยังมีความสัมพันธ์ที่ซับซ้อนซึ่งยังไม่สามารถจะอธิบายได้

2. งานที่ควรทำต่อไป

2.1 ควรจะได้มีการศึกษาเพิ่มเติมถึงกลไกการย่อยสลายและการดูดซับแป้งดิบของเอนไซม์ย่อยแป้งดิบในระดับโมเลกุล

2.2 ควรจะได้ทดลองใช้เอนไซม์ในการย่อยแป้งกึ่งสุกเพราะการทำแป้งกึ่งสุกใช้อุณหภูมิที่ไม่สูง (50-55 °ซ) ในเวลาสั้นๆ แต่จะเร่งการย่อยสลายแป้งได้เร็วขึ้น ซึ่งจะมีความเหมาะสมกับการพัฒนาไปใช้ในอุตสาหกรรม

2.3 น่าจะมีการทดลองใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสย่อยแป้งดิบของเชื้ออะไมโลไมซีสร่วมกับ α-อะไมเลส หรือไอโซอะไมเลส หรือพูลลูแลนเนสในการย่อยแป้งดิบเพราะการย่อยแป้งดิบบางชนิด เช่นแป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวโพด เป็นแป้งที่ย่อยได้ยาก หาก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

มีการใช้เอนไซม์สองชนิดร่วมกัน อาจจะเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายได้สูงขึ้น

2.4 ควรจะมีการปรับปรุงสายพันธุ์เพื่อให้เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพสูง

2.5 ศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการเก็บรักษาเอนไซม์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย